

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Pendahuluan**

Pada saat proses pemanfaatan minyak bumi terdapat resiko bahaya yang dapat mencemari lingkungan sekitar yang disebabkan oleh tumpahan *crude oil* ke dalam tanah. *Crude oil* yang mencemari tanah akan berpotensi untuk merusak struktur dan manfaat tanah itu sendiri. Pemanfaatan mikroba yang terdapat dalam tanah tercemar (*bioremediasi*) merupakan salah satu cara efektif untuk menanggulangi resiko bahaya yang ditimbulkan oleh tumpahan *crude oil*.

Untuk memanfaatkan bakteri yang terkandung di dalam tanah tercemar, tentunya harus diketahui sifat biologis maupun kimiawi dan morfologi dari bakteri itu sendiri. Dari sampel *crude oil* diharapkan dapat ditemukan isolat bakteri yang berpotensi hidup di dalam sampel tersebut. Isolasi dilakukan untuk menemukan isolat potensial untuk mendegradasi hidrokarbon yang kemudian dilihat morfologi dan jenis gram dari bakteri potensial tersebut. Setelah mendapatkan isolat potensial, kemudian dilakukan tes biosurfaktan menggunakan *blood agar* sebagai salah satu indikator bahwa bakteri tersebut memiliki potensi tinggi untuk mendegradasi tanah tercemar *crude oil*.

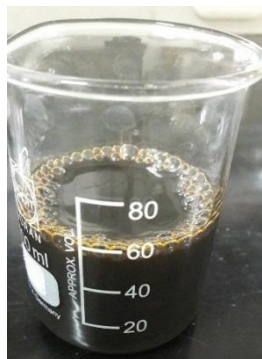
#### **4.2 Sumber Inokulum**

Dalam penelitian ini yang menjadi objek adalah minyak mentah (*crude oil*) dari kilang milik warga lokal Desa Talang Sungaiangit Sumatera Selatan.

### 4.3 Pengayaan dan Isolasi Bakteri

#### 4.3.1 Isolasi Bakteri Langsung

Pada tahap awal sampel minyak mentah murni diisolasikan menggunakan teknik gores kuadran tiga dengan metode aseptik dan diinkubasikan selama 3 hari menggunakan media NA dan media BHMS (Media Bushnell Hass Garam Mineral), media NA merupakan media kaya akan nutrisi sehingga bakteri-bakteri akan dapat berkembang biak subur di dalamnya, berbeda dengan media BHMS, media BHMS ini merupakan media dengan jumlah nutrisi yang sedikit. Dengan komponen penyusun BHMS yang tidak dilengkapi dengan glukosa sebagai sumber karbon, menjadikan bakteri tidak mendapatkan cukup energi untuk berkembang pada media ini, sehingga pertumbuhan bakteri dalam media ini akan cenderung sedikit dan memerlukan waktu inkubasi yang cukup lama. Menurut (Waluyo, 2005) Ketiadaan atau kekurangan sumber-sumber nutrisi ini dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba hingga pada akhirnya dapat menyebabkan kematian.



Gambar 4.1 Sumber Inokulum

Dengan kandungan nutrisi yang tidak cukup banyak, bakteri yang tumbuh pada media BHMS merupakan bakteri yang dapat bertahan dalam keadaan miskin nutrisi. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri yang tumbuh di

dalam media BHMS merupakan bakteri potensial yang sudah terbiasa dengan lingkungan pada *crude oil* yang tidak memiliki sumber energi banyak untuk mendegradasi unsur carbon pada minyak mentah. Pelczar dan Chan (1986), mengatakan bahwa dengan tersedianya nutrisi yang cukup dan kondisi lingkungan yang memadai, maka mikroba akan tumbuh dan berkembang. Pertumbuhan sel mikroba merupakan hasil pembelahan, sehingga menambah jumlah individu

Pada tahap pertama hasil inkubasi tidak menunjukkan adanya tanda kehidupan bakteri pada kedua media. Sampel yang merupakan minyak mentah murni (bukan dari tanah tercemar) memang memiliki potensi bakteri yang sangat minimal, mengingat bahwasanya minyak mentah merupakan salah satu limbah berpotensi menjadi bahan berbahaya dan beracun (B3) yang menjadikan pertumbuhan bakteri sangat terbatas. Rata-rata komposisi dasar minyak bumi adalah karbon (C) 83-87%, hidrogen (H) 11-14%, sulfur (S) 0.01-8%, oksigen (O) 0-2%, nitrogen (N) 0.01-1.7% dan logam 0-0.1% (Neumann, Pacynska-Lahme dan Saverin, 1981). Kekurangan oksigen pun dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada sampel *crude oil*. Oksigen digunakan untuk proses reaksi oksidasi dan respirasi mikroorganisme. Sebagian besar mikroorganisme pendegradasi minyak bumi tergolong dalam mikroorganisme aerob (Jordan dan Payne, 1980). Selain karena minyak mentah atau *crude oil* merupakan bahan berpotensi menjadi limbah B3 dan tidak memiliki suplai oksigen yang baik untuk pertumbuhan bakteri, pertumbuhan bakteri juga terhambat dengan kurangnya nutrisi pada minyak mentah, meskipun salah satu media dalam penelitian ini merupakan media kaya akan nutrisi, bakteri masih tidak mampu tumbuh kembang karna kandungan hidrokarbon yang tidak dibarengi dengan kekayaan akan nutrisi. Unsur karbon yang terdapat pada minyak bumi digunakan mikroorganisme untuk pertumbuhannya. Selain nutrisi dari sumber karbon, mikroorganisme juga membutuhkan nutrisi tambahan. (Wrenn, Haines, Venesa, Kadkhayan dan Suidan, 1993).



Gambar 4.2 Bakteri Tidak Tumbuh pada Media NA



Gambar 4.3 Bakteri Tidak Tumbuh pada Media BHMS

Kemudian pengisolasian dilanjutkan menggunakan teknik *pour plate* tanpa dilakukan pengenceran di dalam media NA dan BHMS selama 3 hari. Namun hasilnya pun tidak menunjukkan adanya tanda kehidupan bakteri pada kedua media. Berdasarkan laporan tim studi "Lemigas" (1994), hasil

pengamatan di lapangan maupun di laboratorium, mikroorganisme dapat hidup dan tumbuh di lingkungan minyak bumi maupun dalam produk-produk hasil pengolahannya. Leahy dan Rita (1990), menyatakan bahwa kemampuan tumbuh dari mikroorganisme yang mendegradasi minyak bumi berbeda-beda tergantung adaptasi mikroorganisme tersebut terhadap lingkungannya. Kehidupan bakteri untuk mendegradasi senyawa polutan dapat dikontrol dengan konsentrasi dan komposisi dari hidrokarbon, nutrisi, oksigen, konsentrasi garam, kelembaban dan temperatur. (Sathishkumar et al., 2008; Hassanshahian et al., 2010). Sehingga metode penelitian ini perlu dikembangkan kembali.

#### 4.2.2 Pengayaan dalam Media NB

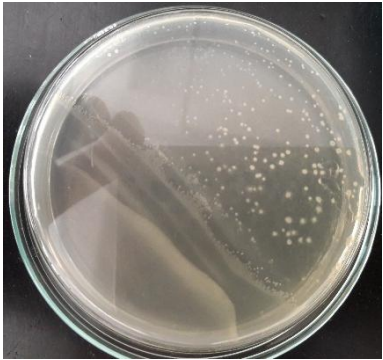
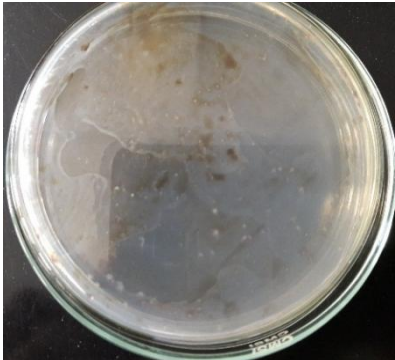
Media NB merupakan media yang kaya akan nutrisi, untuk memberikan energi kepada bakteri dan untuk memperkaya bakteri yang terdapat dalam minyak mentah murni media NB ini dicampurkan dengan minyak mentah dalam porsi 1% (200 ml NB : 2 ml minyak mentah). Kedua campuran ini kemudian di homogenkan menggunakan orbital shaker selama 3 x 24 jam. Selain untuk menghomogenkan, pengocokan dengan shaker berfungsi sebagai aerasi untuk kebutuhan oksigen. Menurut (Sharpley, 1996) Oksigen digunakan untuk mengaktifkan enzim oksigenase dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon. Pertumbuhan bakteri akan terhambat pada kondisi oksigen yang terbatas.



Gambar 4.4 Sampel *Pure Crude Oil* dalam NB

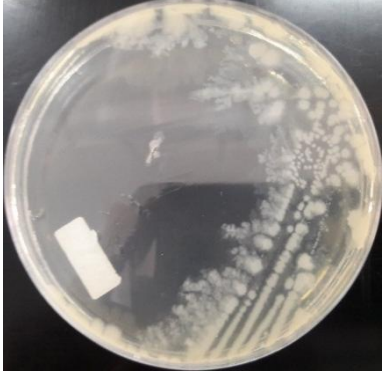
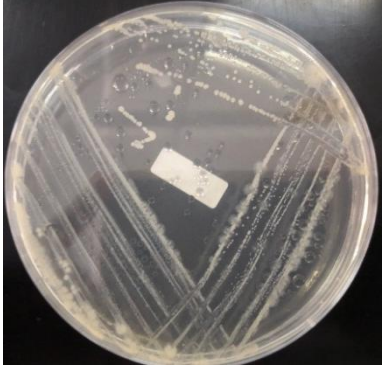
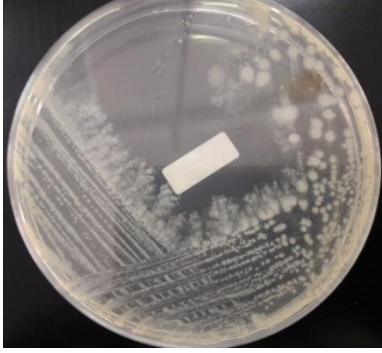
Sampel yang sudah homogen kemudian di isolasi menggunakan teknik *pour plate* dengan memasukkan 1 ml sampel ke dalam media NA dan media BHMS pada cawan petri dan diinkubasi pada suhu 37°C. Berikut hasil inkubasi sampel *Pure Crude Oil*. Untuk mendapatkan bakteri yang banyak, pada media BHMS ditambahkan sampel *crude oil* beberapa tetes sebagai sumber karbon dan kemudian disebar menggunakan *spreader*.

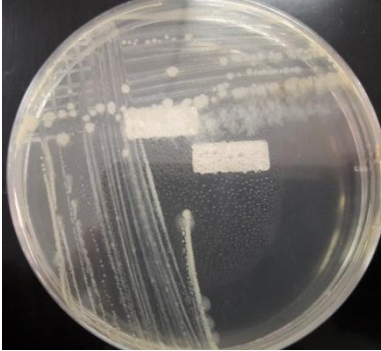
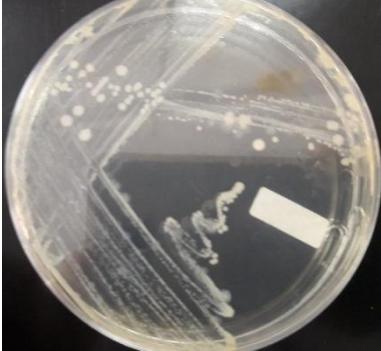
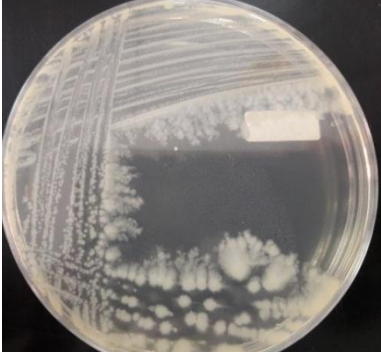
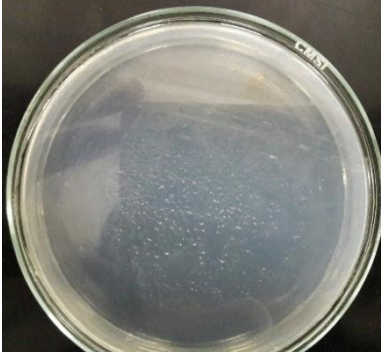
Tabel 4.1 Hasil Inkubasi Sampel *Pure Crude Oil*

Media NA	Media BHMS
 <p data-bbox="464 1245 772 1279">Waktu Inkubasi : 4 hari</p>	 <p data-bbox="975 1245 1283 1279">Waktu Inkubasi : 4 hari</p>

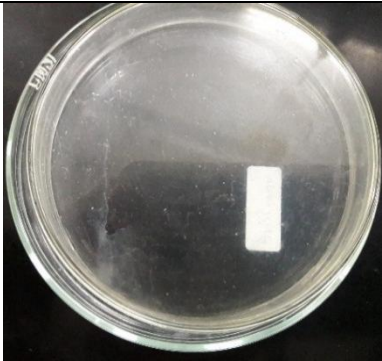
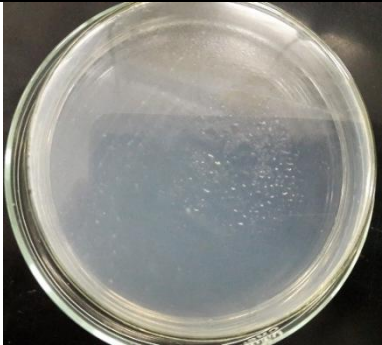
Pada media NA dan BHMS terdapat beberapa varian bentuk morfologi bakteri, sehingga kemudian bakteri yang memiliki varian bentuk yang berbeda di isolasi kembali dengan tujuan untuk mendapatkan isolat murni yang dapat mewakili populasi bakteri lainnya. Pada media NA terdapat 6 jenis varian bentuk bakteri dan pada media BHMS terdapat 3 jenis varian bentuk bakteri. Teknik yang digunakan pada pemurnian isolat bakteri ini adalah metode gores. Sampel kemudian di inkubasi dalam suhu 37°C. Hasil inkubasi dapat dilihat pada **Tabel 4.2**

Tabel 4.2 Hasil Kultur Bakteri *Pure Crude Oil 1*

Kode	Media	Waktu Inkubasi	Gambar
PCON 1	NA	3 hari	
PCON 2	NA	3 hari	
PCON 3	NA	3 hari	

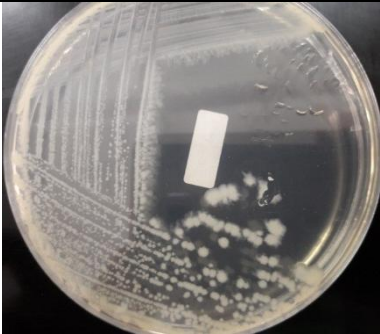
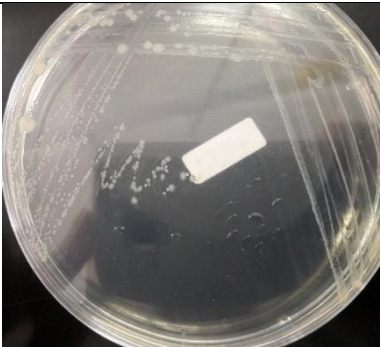
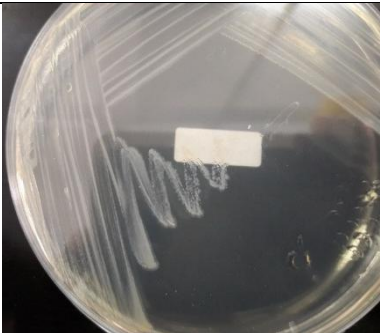
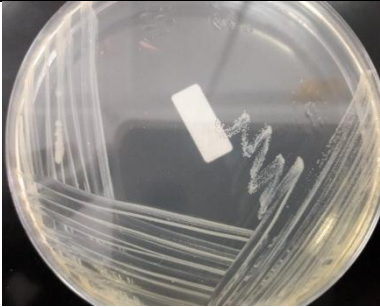
Kode	Media	Waktu Inkubasi	Gambar
PCON 4	NA	3 hari	 A petri dish containing a clear agar medium. The surface is covered with numerous small, white, circular bacterial colonies. The colonies are distributed across the surface, with some appearing in streaked patterns.
PCON 5	NA	3 hari	 A petri dish containing a clear agar medium. The surface is covered with numerous small, white, circular bacterial colonies. The colonies are distributed across the surface, with some appearing in streaked patterns.
PCON 6	NA	3hari	 A petri dish containing a clear agar medium. The surface is covered with numerous small, white, circular bacterial colonies. The colonies are distributed across the surface, with some appearing in streaked patterns.
PCOB 1	BHMS	4 hari	 A petri dish containing a blue agar medium. The surface is covered with numerous small, white, circular bacterial colonies. The colonies are distributed across the surface, with some appearing in streaked patterns.

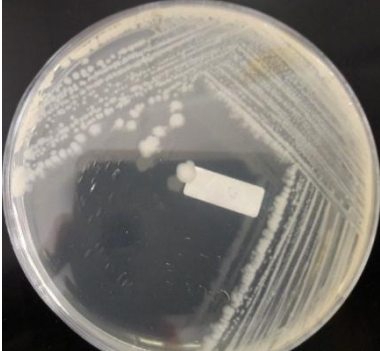


Kode	Media	Waktu Inkubasi	Gambar
PCOB 2	BHMS	4 hari	
PCOB 3	BHMS	4 hari	

Dapat dilihat bahwa dari setiap plate pada media NA terdapat perbedaan satu sama lain, sehingga dari setiap plate di ambil satu inokulum lagi untuk di kultur dengan tujuan mendapatkan *single coloni* kecuali pada sampel PCON 2 karena sudah didapat *single coloni*. Kultur ini menggunakan media NA dengan suhu inkubasi 37°C dan menggunakan teknik gores kuadran 3. Untuk hasil kultur pertama media BHMS, terdapat kesamaan bentuk koloni pada plate satu dan lainnya, sehingga tidak perlu dilakukan kultur kembali.

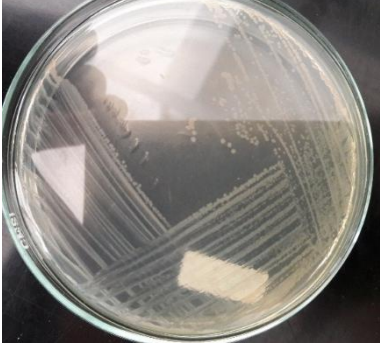
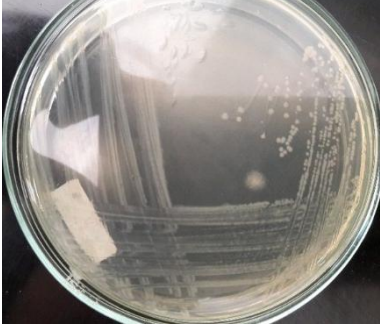
Tabel 4.3 Kultur Bakteri *Pure Crude Oil 2* pada Media NA

<b>Kode Induk</b>	<b>Gambar Kulturke-2</b>
<b>PCON 1</b>	
<b>PCON 3</b>	
<b>PCON 4</b>	
<b>PCON 5</b>	

Kode Induk	Gambar Kultur ke-2
PCON 5	

Waktu inkubasi yang diperlukan hanya 1 hari, jika dilihat pada hasil inkubasi di atas, pada kultur ke-2 kode PCON 3 terdapat dua bentuk yang berbeda yakni bulat dan berbentuk bintang (\*) sehingga sampel dengan kode PCON 3 ini kembali di *kultur* dengan perlakuan yang sama. Hasil inkubasi dapat dilihat pada **Tabel 4.4**.

Tabel 4.4 Kultur Bakteri Kode PCON 3

Bentuk	Gambar
Bulat (o)	
Bintang (*)	

Dari tabel di atas dapat disimpulkan bahwa bentuk bakteri yang dapat mewakili populasi bakteri pada sampel kode PCON3 adalah inokulum berbentuk bulat.

#### 4.3.3 Pengayaan dengan Penambahan Tanah yang Dikondisikan

Tanah yang dikondisikan terhadap sampel minyak mentah merupakan suatu metode untuk mengadaptasikan mikroorganisme dalam sampel tanah terhadap sampel minyak mentah. Dengan mengadaptasikan yang cukup lama diharapkan pertumbuhan bakteri dapat lebih banyak. Tanah yang digunakan adalah tanah yang berasal dari area perbengkelan sekitar kampus Universitas Islam Indonesia dan sudah tercemar oli, diharapkan pada tanah ini sudah terdapat bakteri.

Sampel ini memiliki perbandingan 70 : 30 (tanah : *crude oil* ). Sebelum dicampurkan tanah di saring terlebih dahulu sehingga hanya terdapat tanah tanpa bebatuan. Kemudian sampel tanah + *crude oil* dibiarkan selama 10 hari sebelum digunakan untuk pengujian. Selama penyimpanan, sampel diaduk 3-4 kali dalam sehari agar homogen dan disimpan dalam suhu ruangan.


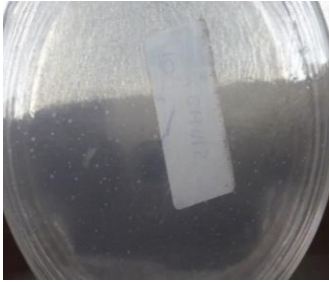
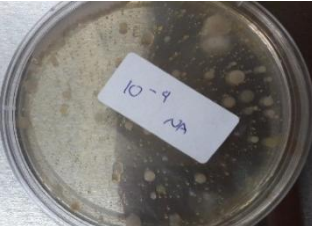



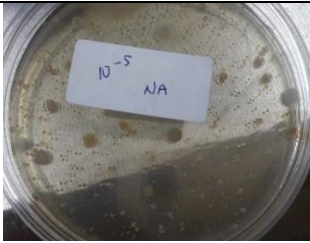
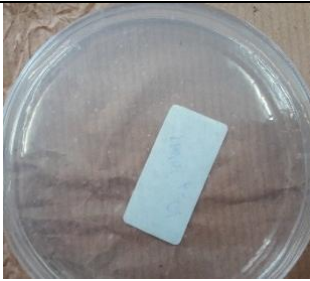
Gambar 4.5 Media Pengayaan Tanah + *Crude Oil*

Setelah sampel siap untuk diuji, kemudian sampel di isolasi menggunakan media NA dan BHMS. Sebelum diisolasi menggunakan teknik *pour plate* sampel diencerkan terlebih dahulu dengan varian  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ , dan  $10^{-5}$ . Dari setiap varian diambil sebanyak 1 ml lalu dipindahkan ke dalam media NA dan media BHMS dengan menggunakan teknik *pour plate*. Media yang sudah terisi inokulum kemudian diinkubasi di dalam inkubator dalam suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 1-2 x 24 jam. Namun pada hari ke 2 jumlah bakteri pada media belum terlihat banyak, kemudian sampel di inkubasi lagi selama 1 hari. Total waktu yang dibutuhkan untuk inkubasi sampel ini adalah 3 hari

Berikut tabel hasil inkubasi sampel tanah dikondisikan pada media NA dan media BHMS;



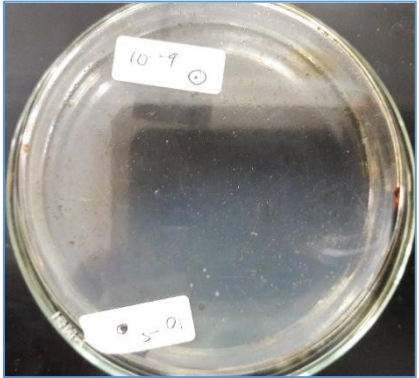

Tabel 4.5 Hasil Isolasi Sampel Tanah + Crude Oil

Kode	Media NA	Media BHMS
$10^{-3}$	PCOT N1 	PCOT B1 
$10^{-4}$	PCOT N2 	PCOT B2 
$10^{-5}$	PCOT N3	PCOT B3


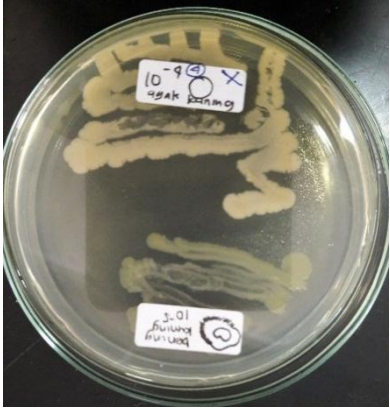

Kode	Media NA	Media BHMS
		

Dari isolat yang tumbuh pada masing-masing plate kemudian dimurnikan dengan memilih beberapa koloni yang dianggap dapat mewakili populasi koloni yang terdapat pada plate tersebut. Pada plate PCOT N3 diambil 5 koloni, pada plate PCOT N2 diambil 1 koloni, PCOT B1 diambil 1 koloni, PCOT B2 diambil 2 koloni dan PCOT B3 diambil 3 koloni. Total koloni yang diinkubasi kembali adalah 12 koloni dari 2 media. Metode yang digunakan adalah metode gores menggunakan oose dan diinkubasi dalam suhu 37° C. Hasil inkubasi dapat dilihat pada **Tabel 4.6**.

Tabel 4.6 Kultur Bakteri Tanah + *Crude oil*

No	Kode Gambar	Bentuk	Waktu Inkubasi	Kultur Bakteri
1	<b>PCOT B2 dan PCOT B3</b>	 Putih bening   Putih bening	11 hari	
2	<b>PCOT B1 dan PCOT B3</b>	 Putih bening	11 hari	



No	Kode Gambar	Bentuk	Waktu Inkubasi	Kultur Bakteri
	<b>PCOT N2</b>	 Kuning pudar pekat		
	<b>PCOT N3</b>	 Kuning pudar pekat		

Pada sampel BHMS bakteri memerlukan waktu yang cukup lama karena media ini tidak memiliki nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan bakteri sehingga pada cawan BHMS ini ditambahkan satu tetes minyak mentah sebagai sumber karbon untuk menunjang hidupnya. Kemudian setelah 11 hari diinkubasi bakteri pada cawan BHMS muncul.

Dari hasil pemurnian di temukan hasil akhir varian bentuk morfologi bakteri yang dapat mewakili populasi dalam cawan-cawan sampel yakni 4 bakteri dalam media NA dengan kode NCOT 1 yang berasal dari isolasi PCOT N3, NCOT 2 yang berasal dari isolasi PCOT N3, NCOT 3 yang berasal dari PCOT 3 , NCOT 4 yang berasal dari PCOT 2 dan 2 bakteri dari media BHMS dengan kode BCOT 1 dan BCOT 2 yang berasal dari PCOT B3.



#### 4.4 Total Jumlah Inokulum

Setelah dilakukan isolasi dari dua sampel yakni *pure crude oil* dan tanah +*crude oil* didapatkan jumlah bakteri dominan yang berpotensi untuk mendegradasi minyak mentah yang terdapat pada sampel tersebut yakni;

Tabel 4.7 Total Inokulum

<b>Sampel</b>	<b>Media</b>	<b>Jumlah</b>
tanah + <i>crude oil</i>	<b>NA</b>	<b>4</b>
tanah + <i>crude oil</i>	<b>NB</b>	<b>2</b>
<i>pure crude oil</i>	<b>NA</b>	<b>6</b>
<i>pure crude oil</i>	<b>NB</b>	<b>1</b>
<b>Total</b>		<b>13</b>

Inokulum yang sudah didapat kemudian dibiakkan sebagai stok bakteri untuk penelitian selanjutnya, bakteri di biakkan di masing-masing media sesuai dengan sumber media pertumbuhan.

#### 4.5 Pengamatan Morfologi Isolat

Untuk membedakan jenis bakteri satu sama lain, maka setiap bakteri yang didapat di amati jenis morfologinya dari segi bentuk , warna dan kepadatan. Sehingga memudahkan dalam pengklasifikasian jenis bakteri. Gambaran hasil pengamatan disajikan pada tabel 4.8

Tabel 4.8 Resume Hasil Pengamatan Isolat

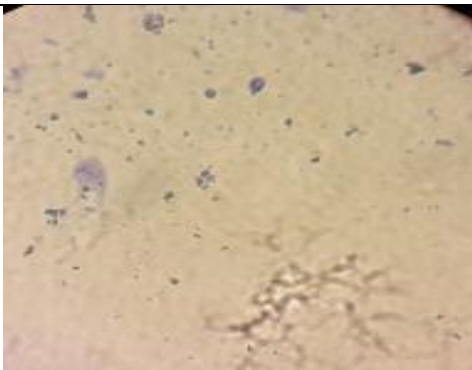
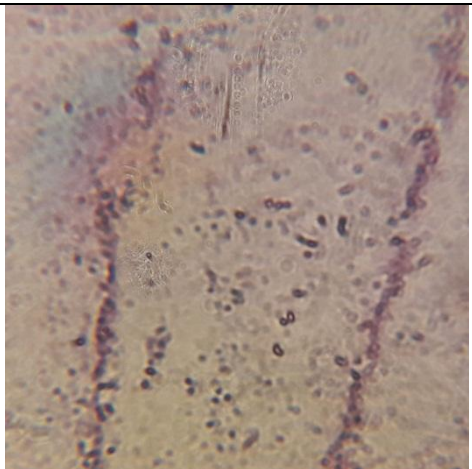
Kode Koloni	Bentuk Koloni	Permukaan Koloni	Tepi Koloni	Struktur bagian tengah	Warna Koloni	Kepadatan koloni
NCOT 1	Bulat	melengkung	Utuh	Bergranula halus	Kuning	Seperti mentega
NCOT 2	Berpusat	Timbul datar	Utuh	Amorf	Putih gading	Berlendir
NCOT 3	Berpusat	Timbul datar	Utuh	Berfilamen	Kuning	Seperti mentega
NCOT 4	Bulat	Rata	Utuh	Halus	Putih gading	Seperti lendir
BCOT 1	Titik-titik	Rata	Utuh	Berfilamen	Putih gading	Liat
BCOT 2	Titik-titik	Rata	Berombak	Kasar	Putih gading	Liat
PCON 1	Serupa akar	melengkung	bergerigi	Amorf	Putih gading	Lendir
PCON 2	Titik-titik	Rata	Utuh	Halus	Putih gading	Lendir
PCON 3	Serupa akar	Rata	Berbelah	Halus	Putih gading	Lendir
PCON 4	Bulat dan berakar	Timbul datar	Utuh dan berbelah	Halus	Putih gading	Lendir
PCON 5	Bulat	Datar	Utuh	Halus	Putih gading	Lendir
PCON 6	Tidak teratur, serupa akar	Datar	berombak	Halus	Putih gading	Lendir
PCOB 1	Bulat	Datar	Utuh	Halus	Putih gading	Liat


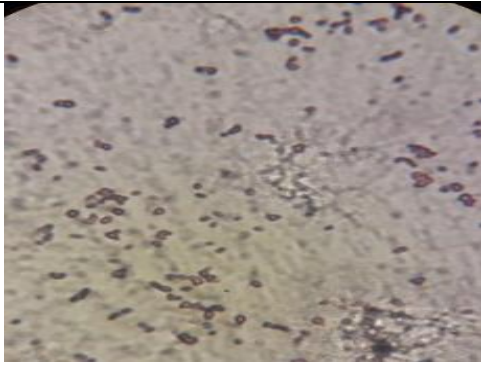
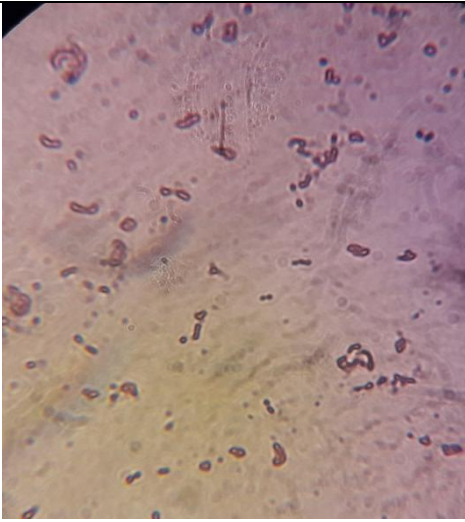
#### 4.6 Pewarnaan Gram dan Analisa Mikroskopis


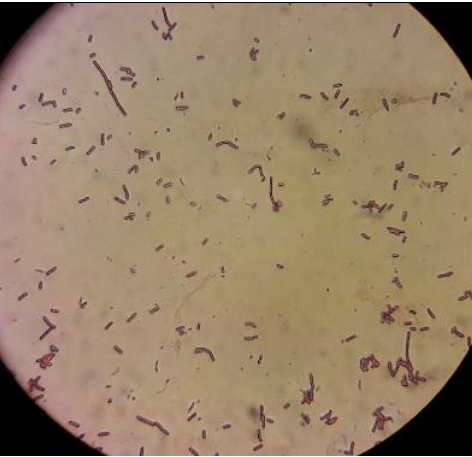
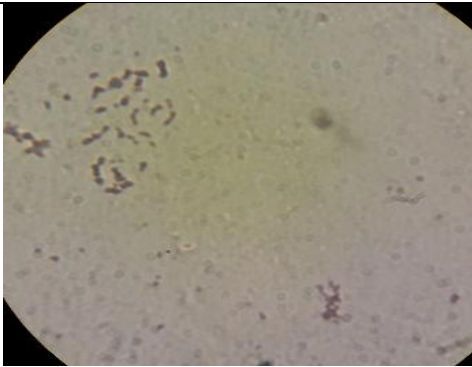
Bakteri merupakan organisme yang sangat kecil (berukuran mikroskopis). Bakteri rata-rata berukuran lebar 0,5 – 1 mikron dan panjang hingga 10 mikron ( 1 mikron =  $10^{-3}$  mm). Itu berarti pula bahwa jasad renik ini tipis sekali sehingga tembus cahaya. Akibatnya pada mikroskop tidak tampak jelas dan sukar untuk melihat bagian-bagiannya. Untuk melihat bakteri dengan jelas, tubuhnya perlu diisi dengan zat warna.

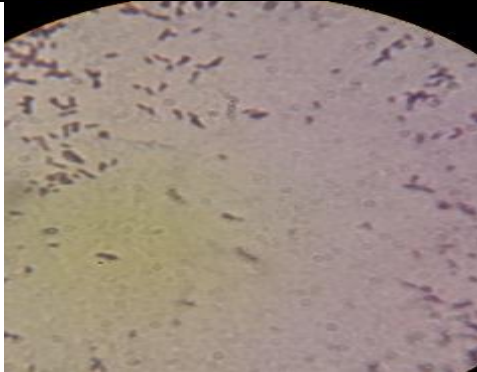
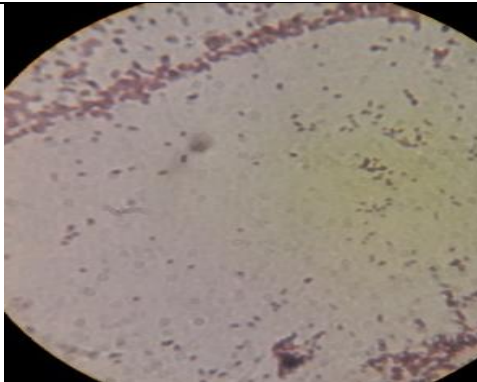
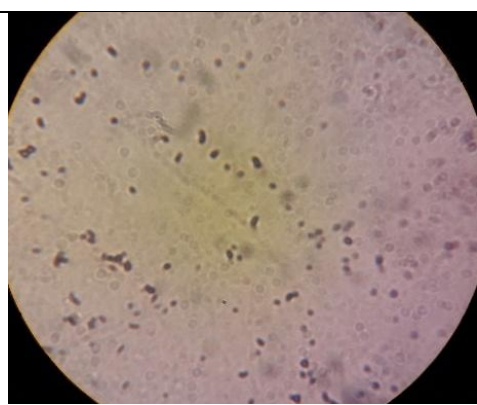

Pada penelitian kali ini jenis pewarnaan yang dipakai adalah pewarnaan gram, dengan klasifikasi gram positif dan gram negatif. Untuk hasil yang lebih baik, pengecatan ini membutuhkan ketelitian dalam waktu . Mikroskop yang dipakai untuk melihat hasil pewarnaan gram pada bakteri ini adalah mikroskop cahaya. Hasil dari pengecatan bakteri yang didapat dapat dilihat pada tabel **4.9**

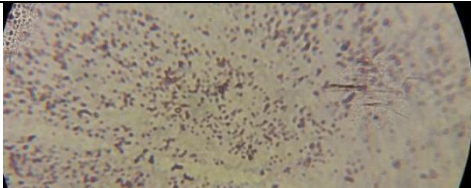
Tabel 4.9 Hasil Pewarnaan Gram pada Bakteri

Kode Bakteri	Gambar	Perbesaran	Identifikasi morfologi
NCOT 1		400	Batang, positif,
NCOT 2		1000	Batang gram negatif,

Kode Bakteri	Gambar	Perbesaran	Identifikasi morfologi
NCOT 3		400	Batang, gram negatif,
NCOT 4		1000	Batang, gram negatif,
BCOT 1		1000	Batang gram negatif,

<b>Kode Bakteri</b>	<b>Gambar</b>	<b>Perbesaran</b>	<b>Identifikasi morfologi</b>
<b>BCOT 2</b>		<b>400</b>	<b>Batang, gram positif,</b>
<b>PCON 1</b>		<b>400</b>	<b>Batang, gram negatif,</b>
<b>PCON 2</b>		<b>400</b>	<b>Batang, gram negatif,</b>


Kode Bakteri	Gambar	Perbesaran	Identifikasi morfologi
PCON 3		1000	Batang, gram negatif,
PCON 4		1000	Batang, gram negatif,
PCON 5		1000	Batang, gram positif,
PCON 6		1000	Batang, gram positif,

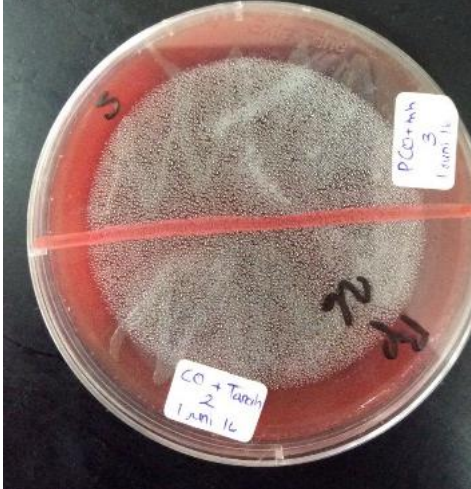
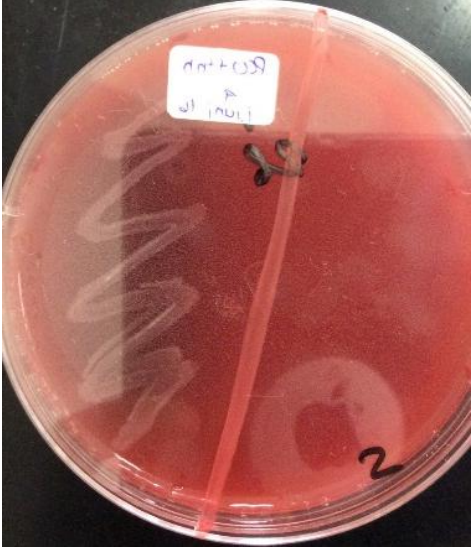

Kode Bakteri	Gambar	Perbesaran	Identifikasi morfologi
PCOB 1		1000	Batang, gram positi

#### 4.7 Tes Haemolysis



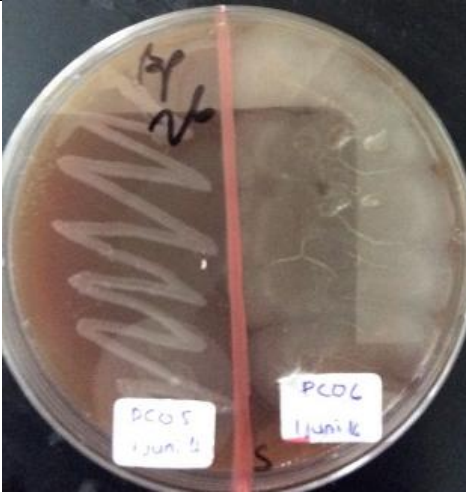
Pada tes haemolysis isolat murni di inokulasikan dengan cara digores pada media Blood Agar dalam satu cawan petri. Biakan bakteri diinkubasikan selama 72 jam pada suhu 37°C. Isolat yang mampu menghasilkan biosurfaktan ditunjukkan dengan adanya zona yang bening di sekitar koloni. Hasil tes haemolysis dapat dilihat pada **Tabel 4.10**

**Tabel 4.10 Hasil Tes Haemolysis**

Kode Koloni	Gambar	Hasil
NCOT 1		Tidak menghasilkan bening pada zona koloni

Kode Koloni	Gambar	Hasil
NCOT 2 dan NCOT 3		Tidak menghasilkan bening pada zona koloni
NCOT 4		Tidak menghasilkan bening pada zona koloni
BCOT 1, BCOT 2, PCOB 1		Tidak menghasilkan bening pada zona koloni



Kode Koloni	Gambar	Hasil
PCON 1 dan PCON 2		Tidak menghasilkan bening pada zona koloni
PCON 3 dan PCON 4		Tidak menghasilkan bening pada zona koloni
PCON 5 dan PCON 6		Tidak menghasilkan bening pada zona koloni

Hasil dari tes haemolysis tidak menunjukkan bahwa bakteri yang ditemukan mampu menghasilkan biosurfaktan. Hasil tes biosurfaktan ini tidak menjadi satu-satunya penentu bahwa bakteri yang di dapat bukan merupakan bakteri yang berpotensi mendegradasi tanah tercemar minyak mentah, karena tes ini merupakan salah satu dari sekian cara untuk mencari tahu apakah bakteri yang diuji merupakan bakteri potensial untuk mendegradasi atau tidak. Bakteri yang mampu menghasilkan biosurfaktan berperan penting dalam upaya bioremediasi, bakteri ini berfungsi sebagai pemecah ikatan dalam minyak mentah sehingga lebih mudah untuk didegradasi. Namun dalam Bioremediasi, bakteri yang digunakan tidak hanya dari satu jenis bakteri, namun berasal dari beberapa jenis bakteri yang memiliki fungsi yang berbeda-beda.

#### **4.8 Pembahasan Umum**

Metode Bioremediasi merupakan metode efektif untuk memperbaiki lahan tercemar polutan dengan efek samping yang tidak merugikan lingkungan sekitar. Metode ini menggunakan mikroorganisme sebagai pemakan polutan. Untuk mengetahui apakah sudah ada atau belumnya bakteri di area tumpahan minyak, maka isolasi bakteri dan kultur bakteri harus dilakukan. Metode efektif dalam pengujian sampel minyak mentah ini adalah dengan menggunakan metode pengayaan. Metode ini dilakukan karena jumlah bakteri pada minyak mentah cenderung sedikit, sehingga membutuhkan suatu kegiatan pengayaan untuk memperbanyak jumlah bakteri dengan memberikan nutrisi dan sumber karbon sebagai penunjang kehidupannya. Selain itu serangkaian tes terhadap bakteri membantu dalam mengkararakteristik bakteri mana yang potensial dalam mendegradasi hidrokarbon. Uji biosurfaktan merupakan salah satu langkah cepat dalam menentukan apakah bakteri yang didapat merupakan bakteri yang dapat menghasilkan biosurfaktan atau bukan. Biosurfaktan merupakan senyawa

yang dapat memecah hidrokarbon sehingga dapat menjadi sumber karbon untuk bakteri, yang selanjutnya akan dikonsumsi bakteri.

Bakteri yang didapat dari pengamatan ini merupakan bakteri mesofilik, hasil dari serangkaian tes pada bakteri yang telah ditemukan dari segi morfologi dan sifat ditinjau dari gram positif-negatif dan tes biosurfaktan dapat dilihat pada **Tabel 4.11**

Tabel 4.11 Hasil Isolasi dan Identifikasi Morfologi Bakteri Potensial

<b>Kode Koloni</b>	<b>Bentuk Koloni</b>	<b>Permukaan Koloni</b>	<b>Tepi Koloni</b>	<b>Struktur bagian tengah</b>	<b>Warna Koloni</b>	<b>Kepadatan koloni</b>	<b>Gram Postif - Negatif</b>	<b>Uji Biosurfaktan</b>
<b>NCOT 1</b>	Bulat	Melengkung	Utuh	Bergranula halus	Kuning	Seperti mentega	<b>Positif</b>	<b>Tidak Ada</b>
<b>NCOT 2</b>	Berpusat	Timbul datar	Utuh	Amorf	Putih gading	Berlendir	<b>Negatif</b>	<b>Tidak Ada</b>
<b>NCOT 3</b>	Berpusat	Timbul datar	Utuh	Berfilamen	Kuning	Seperti mentega	<b>Negatif</b>	<b>Tidak Ada</b>
<b>NCOT 4</b>	Bulat	Rata	Utuh	Halus	Putih gading	Seperti lendir	<b>Negatif</b>	<b>Tidak Ada</b>
<b>BCOT 1</b>	Titik-titik	Rata	Utuh	Berfilamen	Putih gading	Liat	<b>Negatif</b>	<b>Tidak Ada</b>
<b>BCOT 2</b>	Titik-titik	Rata	Berombak	Kasar	Putih gading	Liat	<b>Positif</b>	<b>Tidak Ada</b>
<b>PCON 1</b>	Serupa akar	Melengkung	Bergerigi	Amorf	Putih gading	Lendir	<b>Negatif</b>	<b>Tidak Ada</b>
<b>PCON 2</b>	Titik-titik	Rata	Utuh	Halus	Putih gading	Lendir	<b>Negatif</b>	<b>Tidak Ada</b>
<b>PCON 3</b>	Serupa akar	Rata	Berbelah	Halus	Putih gading	Lendir	<b>Negatif</b>	<b>Tidak Ada</b>
<b>PCON 4</b>	Bulat dan berakar	Timbul datar	Utuh dan berbelah	Halus	Putih gading	Lendir	<b>Negatif</b>	<b>Tidak Ada</b>
<b>PCON 5</b>	Bulat	Datar	Utuh	Halus	Putih gading	Lendir	<b>Positif</b>	<b>Tidak Ada</b>
<b>PCON 6</b>	Tidak teratur, serupa akar	Datar	Berombak	Halus	Putih gading	Lendir	<b>Positif</b>	<b>Tidak Ada</b>

Kode Koloni	Bentuk Koloni	Permukaan Koloni	Tepi Koloni	Struktur bagian tengah	Warna Koloni	Kepadatan koloni	Gram Postif - Negatif	Uji Biosurfaktan
<b>PCOB 1</b>	Bulat	Datar	Utuh	Halus	Putih gading	Liat	<b>Positif</b>	<b>Tidak Ada</b>

Isolat bakteri yang diperoleh pada penelitian ini mempunyai kesamaan karakteristik morfologis dengan beberapa species bakteri yang umumnya mendominasi sampel crude oil yaitu *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* dari golongan gram positif dan *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa* dari golongan gram negatif. Namun perlu dilakukan pengujian lebih lanjut terutama pengujian molekular untuk melihat ada tidaknya kemiripan kandungan 16S DNA nya, sehingga bisa ditentukan jenis bakteri tersebut. Menurut Desai dan Vyas (2006) bakteri pendegradasi hidrokarbon yang efektif di lingkungan alami adalah *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus laterospor*.

